# P/ NT COOPERATION TREAT

# **PCT**

## **NOTIFICATION OF ELECTION**

(PCT Rule 61.2)

## From the INTERNATIONAL BUREAU

10:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)

14 November 2000 (14.11.00)

Arlington, VA 22202

ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

International application No.
PCT/JP00/02011
International filing date (day/month/year)
30 March 2000 (30.03.00)

Applicant

YURA, Hirofumi et al

| 1. | The designated Office is hereby notified of its election made:  |
|----|---|
|    | X in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  |
|    | 27 October 2000 (27.10.00)  |
|    | in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  |
|    |   |
| 2. | The election X was  |
|    | was not   |
|    | made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b). |
|    |   |
|    |   |
|    |   |
|    |   |
|    |   |
|    |   |
|    |   |
|    |   |

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Antonia Muller

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

# PA™NT COOPERATION TREAT™

|   | From the INTERNATIONAL BUREAU  |                                      |                 |                          |
|---|--|--------------------------------------|-----------------|--------------------------|
| PCT   | To:  |                                      |                 |                          |
| NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE  (PCT Rule 92bis.1 and Administrative Instructions, Section 422)  Date of mailing (day/month/year) 26 September 2001 (26.09.01) | SONODA, Yoshitaka<br>4F/W1 Time-24 Bldg.<br>45, Aomi 2-chome<br>Koto-ku, Tokyo 135-8073<br>JAPON |                                      |                 |                          |
| Applicant's or agent's file reference IB1691NET   |  | IMPORTA                              | ANT NOTIF       | EICATION                 |
| International application No. PCT/JP00/02011  | 1  | nal filing date (d<br>farch 2000 (3  | -               | ar)                      |
| The following indications appeared on record concerning:      X the applicant     X the inventor  | the ager   | t                                    | the commo       | n representative         |
| Name and Address  WAKAMATSU, Daisuke Kawasumi Laboratories 28-15, Minamiooi 3-chome Shinagawa-ku, Tokyo 140-8555  |  | State of Natio<br>JP<br>Telephone No |                 | State of Residence<br>JP |
| Japan   |  | Facsimile No.                        | -               |                          |
|   |  | Teleprinter No                       | ).              |                          |
| 2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the the person the name X the add  | Г  | change has bee                       |                 | oncerning: the residence |
| Name and Address  |  | State of Natio<br>JP                 | nality          | State of Residence JP    |
| WAKAMATSU, Daisuke<br>3-6-#106, Sumiyoshihigashimachi 1-chome<br>Higashinada-ku<br>Kobe-shi   |  | Telephone No                         | J.              | <u> </u>                 |
| Hyogo 658-0052<br>Japan   |  | Facsimile No.                        |                 |                          |
|   |  | Teleprinter No                       | ).              |                          |
| 3. Further observations, if necessary:  |  |                                      |                 |                          |
| 4. A copy of this notification has been sent to:  |  |                                      |                 |                          |
| X the receiving Office  | Į  | <u> </u>                             | ated Offices of | ·                        |
| the International Searching Authority  the International Preliminary Examining Authority  |  | X the elected other:                 | l Offices cond  | erned                    |
|   |  |                                      |                 |                          |
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland   | Authorized   |                                      | sumu KUB        | 0                        |
| Facsimile No.: (41-22) 740.14.35  | Telephone  | No.: (41-22) 338                     | 3.83.38         |                          |

# PATENT COOPERATION TREAT

|   | From the INTERNATIONAL BUREAU                        |  |  |  |
|---|--|--|--|--|
| PCT   | То:  |  |  |  |
| NOTIFICATION OF THE RECORDING   | SONODA Vachitaka                                     |  |  |  |
| OF A CHANGE   | SONODA, Yoshitaka<br>4F/W1 Time-24 Bldg.             |  |  |  |
| (PCT Rule 92bis.1 and Administrative Instructions, Section 422)                                 | 45, Aomi 2-chome<br>Koto-ku, Tokyo 135-8073<br>JAPON |  |  |  |
| Date of mailing (day/month/year)  | ٦  |  |  |  |
| 26 September 2001 (26.09.01)  |  |  |  |  |
| Applicant's or agent's file reference IB1691NET   | IMPORTANT NOTIFICATION                               |  |  |  |
| International application No.   | International filing date (day/month/year)           |  |  |  |
| PCT/JP00/02011  | 30 March 2000 (30.03.00)                             |  |  |  |
| 1. The following indications appeared on record concerning:                                     |  |  |  |  |
| X the applicant the inventor  | the agent the common representative                  |  |  |  |
| Name and Address  | State of Nationality State of Residence  JP JP       |  |  |  |
| KAWASUMI LABORATORIES<br>28-15, Minamiooi 3-chome   | Telephone No.  |  |  |  |
| Shinagawa-ku, Tokyo 140-8555<br>Japan   | Total tita.  |  |  |  |
| - Sapan   | Facsimile No.  |  |  |  |
|   | Teleprinter No.                                      |  |  |  |
|   |  |  |  |  |
| 2. The International Bureau hereby notifies the applicant that t  X the person the name the add |  |  |  |  |
| Name and Address  | State of Nationality State of Residence              |  |  |  |
|   | Telephone No.  |  |  |  |
|   | Facsimile No.  |  |  |  |
|   | Teleprinter No.                                      |  |  |  |
|   | Totagnines No.                                       |  |  |  |
| 3. Further observations, if necessary: The applicant identified in Box 1 should be dele         | ted as an applicant of record.                       |  |  |  |
| 4. A copy of this notification has been sent to:  |  |  |  |  |
| X the receiving Office  | the designated Offices concerned                     |  |  |  |
| the International Searching Authority   | X the elected Offices concerned                      |  |  |  |
| the International Preliminary Examining Authority   | other:   |  |  |  |
|   |  |  |  |  |
| The International Bureau of WIPO  | Authorized officer                                   |  |  |  |
| 34, chemin des Colombettes<br>1211 Geneva 20, Switzerland                                       | Susumu KUBO  |  |  |  |
| Facsimile No.: (41-22) 740.14.35  | Telephone No.: (41-22) 338.83.38                     |  |  |  |

Translation



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| Applicant's or agent's file reference IB1691NET   | FOR FURTHER ACTION  | SeeNotificationofTransmittalofInternational Preliminary<br>Examination Report (Form PCT/IPEA/416) |  |  |  |  |
|---|---|---|--|--|--|--|
| International application No.   | International filing date (day/n                                |   |  |  |  |  |
| PCT/JP00/02011  | 30 March 2000 (30.0   | 03.00) 30 March 1999 (30.03.99)   |  |  |  |  |
| International Patent Classification (IPC) or n<br>C12N 5/08, C12M 1/00  | ational classification and IPC                                  |   |  |  |  |  |
| Applicant   | NETECH INC  |   |  |  |  |  |
| This international preliminary examinant and is transmitted to the applicant action.  |   | d by this International Preliminary Examining Authority   |  |  |  |  |
| 2. This REPORT consists of a total of   | sheets, including   | ng this cover sheet.  |  |  |  |  |
| This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). |   |   |  |  |  |  |
| These annexes consist of a to   | These annexes consist of a total of sheets.                     |   |  |  |  |  |
| 3. This report contains indications rela  | ting to the following items:                                    |   |  |  |  |  |
| I Basis of the report   |   |   |  |  |  |  |
| II Priority   |   |   |  |  |  |  |
| III Non-establishment o   | of opinion with regard to novelty                               | y, inventive step and industrial applicability  |  |  |  |  |
| IV Lack of unity of inve  |   |   |  |  |  |  |
| V Reasoned statement citations and explan   | under Article 35(2) with regard ations supporting such statemen | to novelty, inventive step or industrial applicability; nt  |  |  |  |  |
| VI Certain documents of   | ited  |   |  |  |  |  |
| VII Certain defects in th   | e international application                                     |   |  |  |  |  |
| VIII Certain observations   | s on the international application                              | n   |  |  |  |  |
|   |   |   |  |  |  |  |
| Date of submission of the demand  | Date of   | of completion of this report  |  |  |  |  |
| 27 October 2000 (27.1   | 0.00)   | 20 April 2001 (20.04.2001)  |  |  |  |  |
| Name and mailing address of the IPEA/JP   | Author  | rized officer   |  |  |  |  |
| Facsimile No  | Teleph  | none No.  |  |  |  |  |

tional application No.

# PCT/JP00/02011

| I. | I. Basis of the report |                                   |  |  |  |  |
|----|------------------------|-----------------------------------|--|--|--|--|
| 1. | With                   | regard to                         | the elements of the international application:*  |  |  |  |
| Ι. |                        | the inte                          | rnational application as originally filed  |  |  |  |
| ł  | $\boxtimes$            | the des                           | cription:  |  |  |  |
| ļ  | _                      | pages                             | 1-15,17  | . as originally filed  |  |  |
| İ  |                        | pages                             | 16   | , filed with the demand  |  |  |
|    |                        | pages                             | , filed with the letter of   |  |  |  |
|    | $\boxtimes$            | the clai                          |  |  |  |  |
|    |                        | pages                             |  | , as originally filed  |  |  |
|    |                        | pages                             | , as amended (together wi  | ith any statement under Article 19                               |  |  |
|    |                        | pages                             |  |  |  |  |
|    |                        |                                   | , filed with the letter of   | · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·                            |  |  |
|    | $\square$              |                                   |  |  |  |  |
|    |                        | the drav                          | 1/2-2/2  | as originally filed  |  |  |
|    |                        | pages<br>pages                    |  |  |  |  |
|    |                        |                                   | , filed with the letter of   | , med with the demand  |  |  |
|    | $\Box$                 |                                   |  |  |  |  |
|    | <u></u> г              | _                                 | nce listing part of the description:   |  |  |  |
|    |                        |                                   |  |  |  |  |
| ĺ  |                        | pages                             |  |  |  |  |
| l  |                        | pages                             | , filed with the letter of   |  |  |  |
| 2. | the in                 | iternation                        | o the language, all the elements marked above were available or furnished to this A nal application was filed, unless otherwise indicated under this item. Its were available or furnished to this Authority in the following language | , , , , ,  |  |  |
|    |                        | the lan                           | guage of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule  | 23.1(b)).  |  |  |
|    |                        | the lan                           | guage of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).  |  |  |  |
|    |                        | the lan<br>or 55.3                | guage of the translation furnished for the purposes of international preliminary ex ).   | amination (under Rule 55.2 and/                                  |  |  |
| 3. |                        |                                   | to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the internation camination was carried out on the basis of the sequence listing:   | al application, the international                                |  |  |
| l  |                        | contain                           | ed in the international application in written form.   | ·  |  |  |
| ŀ  |                        | filed to                          | gether with the international application in computer readable form.   |  |  |  |
|    |                        | furnish                           | ed subsequently to this Authority in written form.   |  |  |  |
|    |                        | furnish                           | ed subsequently to this Authority in computer readable form.   |  |  |  |
|    |                        |                                   | atement that the subsequently furnished written sequence listing does not go<br>tional application as filed has been furnished.  | beyond the disclosure in the                                     |  |  |
|    |                        |                                   | atement that the information recorded in computer readable form is identical to trnished.  | the written sequence listing has                                 |  |  |
| 4. |                        | The am                            | endments have resulted in the cancellation of:   | :  |  |  |
|    |                        |                                   | the description, pages   |  |  |  |
|    |                        |                                   | the claims, Nos.   |  |  |  |
|    |                        |                                   | the drawings, sheets/fig   |  |  |  |
| 5. |                        |                                   | ort has been established as if (some of) the amendments had not been made, since the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**   | they have been considered to go                                  |  |  |
| *  | in thi                 | icement s<br>is report<br>(0.17). | heets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not c  | n under Article 14 are referred to ontain amendments (Rule 70.16 |  |  |
| ** |                        | •                                 | ent sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed  | to this report.  |  |  |
|    |                        | -                                 |  |  |  |  |

| V. | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |  |     |     |  |  |  |  |
|----|---|--|-----|-----|--|--|--|--|
| 1. | Statement   |  |     |     |  |  |  |  |
|    |   |  | 1 5 | VEC |  |  |  |  |

| Statement                     |        |     |       |
|-------------------------------|--------|-----|-------|
| Novelty (N)                   | Claims | 1-5 | YES   |
|                               | Claims |     | NO NO |
| Inventive step (IS)           | Claims |     | YES   |
|                               | Claims | 1-5 | NO NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-5 | YES   |
|                               | Claims |     | NO    |

### 2. Citations and explanations

Document 1: JP, 8-319300, A (Kanagawa Academy of Science

& Technology), 3 December 1996 (03.12.96)

Document 2: Jinko Zoki, Vol. 20, No. 1 (1991), pp.

258-262

### Claims 1-5

The invention described in Claims 1-5 does not involve an inventive step in the light of Document 1 cited in the international search report and newly cited Document 2.

Document 1 discloses a base material for cells having immobilized lectin wherein a glycopolymer having a sugar chain which binds specifically with a lectin is adsorbed to a base material and said lectin is immobilized via the polymer to form a base material for the cells, which, when incubated in a cold dark place for 30 minutes with cells which express on the cell surface a glycoprotein which can bind specifically to the lectin, enables selective and efficient adhesion of said cells. It also discloses use of this base material to concentrate T cells and CD3 cells from a suspension of peripheral blood monocytes.

The invention described in Claims 1-5 differs from the invention disclosed in Document 1 in that the cells

recovered are immature haematopoietic cells or erythroblasts, and that in the method for immobilizing said cells on a base material via lectin and a polymer containing a sugar chain which specifically recognizes said lectin, a cell-lectin complex/non-complex is under conditions which inactivate the cells, followed by incubation with the base material coated with a polymer containing a sugar chain which is specifically recognized by the lectin.

However, it is known that the sugar chains on the surface of cells differ depending on the stage of differentiation and that immature cells in blood have sugar chains; therefore, application of the invention disclosed in Document 1 to the recovery of blood cells at different stages of differentiation is obvious to a person skilled in the art. Similarly, binding cells to a lectin immobilized on a base material, or immobilizing them on the base material after forming a cell-lectin complex in solution, are routine options available to a person skilled in the art for immobilizing cells to be recovered by immobilizing them on a base material via a lectin and a polymer containing a sugar chain which recognize said lectin. In addition, Document 2 indicates that cell-ligand interaction when separating T lymphocyte subsets from PBMC (peripheral blood monocytes) using material having immobilized lectin is facilitated by the use of a low, non-physiological, temperature, because cellular energy metabolism and alterations in cell membrane surface structure are suppressed; therefore carrying out cell/lectin binding under cell inactivating conditions is obvious to a person skilled in the art.

\*When 300 micrograms was added, too many nucleated leukocytes other than erythroblasts were caused to attach, so that a miss count occurred.

In consideration with the above results, the optimal amounts of lectin (SBA) to be added for detecting fetal erythroblasts were estimated. The results estimated from 20 instances are indicated in the following Table 7. In each case, a maternal body was examined based on informed consent by echo imaging to ascertain that she carries healthy boy. The erythroblasts separated from the collected maternal blood were examined by FISH assay using Aneu Vysion Assay Kit (VYSIS, INC.) to detect a Y-probe.

Table 7

| The Amount of Lectin Added (ng)  | 2 | 4    | 8    | 12   | 16   |
|--|---|------|------|------|------|
| The Number of NRBC detected (relative value when the number of NRBC detected | 0 | 0.16 | 1.00 | 1.07 | 0.97 |
| with 8 ng of lectin is assumed as 1.00)                                      |   |      |      |      |      |

These results show that when the amount of lectin added is decreased and the attachment of leukocytes is reduced, it is possible to selectively accumulate erythroblasts, and it is possible to efficiently detect erythroblasts, which are useful in genetic diagnosis, from maternal blood. In addition, it was found that there was an apparent lower-limit of the amount of lectin to be added, and that the loss of erythroblasts was reduced when 8 ng or more of lectin was added. In such cases, contamination with nucleated cells or leukocyte was gradually increased when the amount of lectin exceeded 20 ng, the contamination occurred so abundantly that the recognition of NRBC became difficult when the amount of lectin reached to 32 ng or more. Furthermore, these results were reproducible when PVLA was employed as the glycoconjugate polymer.

#### 特許協力条約

PCT

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条) [PCT36条及びPCT規則70] REC'D 0 4 MAY 2001

WIPO

PCT

| 出願人又は代理人<br>の書類記号 IB1691NET   | 今後の手続きについて   |                                  | 设告の送付通知(<br>16)を参照する |                    |  |  |  |  |  |
|---|--|----------------------------------|----------------------|--------------------|--|--|--|--|--|
| 国際出願番号<br>PCT/JP00/02011  | 国際出願日<br>(日.月.年) 30.   | 03.00.                           | 優先日<br>(日.月.年)       | 30.03.99           |  |  |  |  |  |
| 国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>7</sup> Cl2N5/08  | C12M1/00   |                                  |                      |                    |  |  |  |  |  |
| 出願人 (氏名又は名称)<br>株式会社ネーテック   |  |                                  |                      |                    |  |  |  |  |  |
| 1. 国際予備審査機関が作成したこの国<br>2. この国際予備審査報告は、この表制  |  |                                  |                      | 定に従い送付する。          |  |  |  |  |  |
| <ul><li>区 この国際予備審査報告には、附<br/>査機関に対してした訂正を含む<br/>(PCT規則70.16及びPCT<br/>この附属書類は、全部で1</li></ul> | r明細書、請求の範囲及<br>実施細則第607号参照                                   | び/又は図面も添作<br>(R)                 |                      | /又はこの国際予備審         |  |  |  |  |  |
| 3. この国際予備審査報告は、次の内容 I X 国際予備審査報告の基礎 II  | I X 国際予備審査報告の基礎  |                                  |                      |                    |  |  |  |  |  |
| Ⅲ   | 上の利用可能性について  | での国際予備審査報                        | 告の不作成                |                    |  |  |  |  |  |
| の文献及び説明<br>VI の文献及び説明   | V X PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 |                                  |                      |                    |  |  |  |  |  |
| VII 国際出願の不備 VII 国際出願に対する意見  |  |                                  |                      | ·                  |  |  |  |  |  |
| 国際予備審査の請求書を受理した日 27.10.00   | 国  | 際予備審査報告を作<br>2 0                 | F成した日<br>. 04.01     |                    |  |  |  |  |  |
| 名称及びあて先<br>日本国特許庁(IPEA/JP)<br>郵便番号100-8915<br>東京都千代田区霞が関三丁目4番                               | \$ 3 号   | 許庁審査官 (権限の<br>内田 俊生<br>話番号 03-35 | <b>(4)</b>           | 4B 2936<br>内線 3448 |  |  |  |  |  |

## 国際予備審査報告

国際出願番号 PCT/JP00/02011

| Ι. | [           | 国際予備審査幸  | <b>E報告の基礎</b>  |        |
|----|-------------|--|--|--------|
| 1. | F           |  | a審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に<br>らに提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付し<br>0.16,70.17)  |        |
|    |             | 出願時の国際   | 国際出願書類   |        |
|    | X           | 明細書<br>明細書<br>明細書  | 第       1-15,17       ページ、 出願時に提出されたもの         第       16       ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたも         第       ページ、 付の書簡と共に提出されたも  | 1      |
|    | X           | 請求の範囲<br>請求の範囲<br>請求の範囲<br>請求の範囲   | 期 第項、PCT19条の規定に基づき補正されたも目 第項、国際予備審査の請求書と共に提出されたも   | o ·    |
|    | X           | 図面<br>図面<br>図面   | 第       1/2-2/2       ページ <del>/図</del> 、出願時に提出されたもの         第       ページ/図、国際予備審査の請求書と共に提出されたも         第       ページ/図、 付の書簡と共に提出されたも  |        |
|    |             | 明細書の配列   | 2列表の部分 第 ページ、 出願時に提出されたもの<br>2列表の部分 第 ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたも<br>2列表の部分 第 ページ、 付の書簡と共に提   |        |
| 2. | ٤           | 上記の出願書類  | <b>碁類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。</b>   |        |
|    | 1           | 上記の書類は、  | は、下記の言語である語である。  |        |
|    | ]<br>]<br>] | _<br>PCT規  | 査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語<br>規則48.3(b)にいう国際公開の言語<br>備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語  |        |
| 3. | :           | の国際出願に   | 頁は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告  | を行った。  |
|    | [<br>[<br>[ | □ この国際に この国際 出願後に 出願後に 出願の提出 書の 世界の 世界 と まる こうしゅう こう | 際出願に含まれる書面による配列表<br>際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表<br>に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表<br>に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列記<br>に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まれ<br>出があった<br>よる配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一でお<br>出があった。 | ない旨の陳述 |
| 4. | †<br>       | 浦正により、 <sup>-</sup><br>明細書<br>請求の範囲  | 下記の書類が削除された。<br>第ページ<br>II 第項  |        |
|    |             | 図面   | 図面の第 ページ/図   |        |
| 5. |             | れるので、  | 予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされた<br>その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し<br>おける判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)   |        |
|    |             |  |  |        |

#### 国際予備審查報告

国際出願番号 PCT/JP00/02011

| v. | 新規性、進歩性又は産業上の利用可<br>文献及び説明 | 能性についての法第12条       | (РСТЗ5条(2)) | に定める見解、<br> | それを裏付ける |
|----|----------------------------|--------------------|-------------|-------------|---------|
| 1. | 見解                         |                    |             |             |         |
|    | 新規性(N)                     | 請求の範囲 _<br>請求の範囲 _ | 1-5         |             | 有<br>無  |
|    | 進歩性(IS)                    | 請求の範囲 _<br>請求の範囲 _ | 1 - 5       |             |         |
|    | 産業上の利用可能性(IA)              | 請求の範囲 _<br>請求の範囲 _ | 1 – 5       |             | 有<br>無  |

### 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1: JP, 8-319300, A (財団法人神奈川科学技術アカデミー)

3.12月.1996(03.12.96)

文献 2:人工臟器,第20巻,第1号,(1991),p. 258-262

## 請求の範囲1-5

- 請求の範囲1-5に記載された発明は、国際調査報告で引用した文献1及び新たに引用した文献2により進歩性を有さない。

文献1には、レクチンと特異的に結合する糖鎖を有する糖鎖高分子を基材に吸着させ、その高分子を介して該レクチンを固定した細胞用基材と、該レクチンが特異的に結合できる糖鎖を細胞表面に発現している細胞とを冷暗所で30分間インキュベーションすることにより、選択的かつ効率的に該細胞を接着させることができるレクチンを固定化した細胞用基材が記載されている。そして、その基材によって、末梢血単核球懸濁液から、T細胞のCD3細胞を濃縮できたことも記載されている。

そうすると、請求の範囲1-5に記載された発明は、回収する血液細胞が未成熟な造血細胞及び/または赤芽球であって、該細胞をレクチン及び該レクチンを特異的に認識できる糖鎖含有高分子を介して基材に固定化させる方法において、細胞を不活性化する条件下で、細胞-レクチン複合体/非複合体を形成させ、その後、レクチンにより特異的に認識される糖鎖を有する糖鎖含有高分子で表面被覆した基材とともにインキュベーションすることによる点で、文献1に記載された発明と相違している。

しかしながら、分化段階の違いによって細胞表面の糖鎖が変化することや、血液中の未成熟細胞も糖鎖を有していることは周知であるから、文献1に記載された発明を、異なる分化段階の血液細胞の回収に適用することは、当該技術分野の専門家にとって自明なものである。また、最終的に回収すべき細胞をレクチン及び該レクチンを特異的に認識できる糖鎖含有高分子を介して基材に固定化するために、基材に固定化するために、基材に固定化するために、基材に固定化を形成されてから基材に固定化させるかは、当該技術分野の専門家が適宜選択し得ることである。また、文献2には、レクチンを固定化した分離材を用いて、PBMC(末代血単核球)からTリンパ球サブセットを分離する際に、非生理的な低温下で行うと、単核球)からTリンパ球サブセットを分離する際に、非生理的な低温下で行うと、細胞のエネルギー代謝や細胞膜表面構造の変化が抑えられるので、細胞とを結合させる際に、細胞を不活性化する条件で行うことも、当該技術分野の専門家にとって自明なものである。



ンセントに基づき健常な男児を妊娠している母体をエコー診断により確認し、採血された母体血から分離された赤芽球を AneuVysion Assay Kit. (VYSIS, INC.)で定法による FISH 検査を行い Y-プローブの検出を行った。

表7

| 添加したレクチン量 (μg)              | 2 | 4    | 8    | 12   | 16   |
|-----------------------------|---|------|------|------|------|
| 8 μ g 添加したときの検出 <b>NRBC</b> | 0 | 0.16 | 1.00 | 1.07 | 0.97 |
| 数を1とした場合の相対値                |   |      |      |      |      |

これらの結果から、レクチン添加量を減少させて白血球の接着を阻害すると、赤芽球を選択的に濃縮することができ、母体血から遺伝子診断に有用な赤芽球を効率よく検出できることが示された。さらに、レクチンの限界的添加量も存在し8  $\mu$ g以上のレクチンを添加する方が赤芽球の損失が少ないことも明らかとなった。この場合、20 $\mu$ g以上の添加量から徐々に有核細胞である白血球の混入が増加し、32 $\mu$ g以上では NRBC の確認が困難なほどの混入が生じた。また、同様の結果は、糖鎖高分子として PVLA を用いた場合でも再現された。

一方、赤芽球などの赤血球成分の処理量が少ない母体血サンプルでは、第1段階 のレクチンによるインキュベーションを行わなくても良好な赤血球選択的な接着が 再現された。

また、このとき、男児を妊娠している母体8例を検査したところ、男児特有のY-プローブが8例検出され母体血から胎児細胞が高い確率で回収できることも明らかとなった。以上から、当該レクチンによる有核赤芽球の分離法は、非/低侵襲的に母体血から胎児細胞を検出して、胎児の染色体を検査する有効な方法であることが判った。

実施例4に従って濃縮された CD34 陽性の細胞分画を回収し、コロニー形成能の比較を市販のアッセイキット (MethoCult GF H4434, StemCell Technologies Inc)を用いて行った。その結果、当該レクチンによる細胞分離法によって CD34 陽性細胞を濃縮したものは、分離をしないものに比べ8.8倍のコロニー形成率が得られた。このことから、レクチン処理は後のコロニー形成に影響を与えることなく、効率的

# EP · US

PCT

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条) [PCT18条、PCT規則43、44]

| 出願人又は代理人<br>の書類記号 IB1691NET  | 今後の手続きについては、国際調査報告の <del>と</del> 行通知様式(PCI/ISA/220)<br>及び下記5を参照すること。 |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
| 国際出願番号<br>PCT/JP00/02011   | 国際出願日<br>(日.月.年) 30.03.00  | 優先日<br>(日.月.年) 30.03.99  |  |  |  |  |
| 出願人 (氏名又は名称)<br>株式会社ネーテック  | ウ  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。<br>この写しは国際事務局にも送付される。   |  |  |  |  |  |  |
| この国際調査報告は、全部で3ページである。  |  |  |  |  |  |  |
| □ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。   |  |  |  |  |  |  |
| 1. 国際調査報告の基礎 a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。  □ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。  |  |  |  |  |  |  |
| b. この国際出願は、ヌクレオチ<br>この国際出願に含まれる書   | ド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の<br>計面による配列表                                       | 配列表に基づき国際調査を行った。   |  |  |  |  |
| □ この国際出願と共に提出さ   | れたフレキシブルディスクによる配列表   | ₹  |  |  |  |  |
| □ 出願後に、この国際調査機   | <b>後関に提出された書面による配列表</b>  |  |  |  |  |  |
|  | &関に提出されたフレキシブルディスクに  | こよる配列表   |  |  |  |  |
| □ 出願後に、この国際には「は、この国際に |  |  |  |  |  |  |
| 書の提出があった。  |  | The second secon |  |  |  |  |
| <ul><li>□ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。</li></ul>   |  |  |  |  |  |  |
| 2. 請求の範囲の一部の調査   | ができない(第I欄参照)。  |  |  |  |  |  |
| 3. ② 発明の単一性が欠如して   | いる (第Ⅱ欄参照)。  |  |  |  |  |  |
| 4. 発明の名称は 🗓 出  | 願人が提出したものを承認する。  |  |  |  |  |  |
| □ 次  | に示すように国際調査機関が作成した。   |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 5. 要約は、 🛛 🗓 出  | 願人が提出したものを承認する。  |  |  |  |  |  |
| 国  | Ⅲ欄に示されているように、法施行規則<br>際調査機関が作成した。出願人は、この<br>国際調査機関に意見を提出することがで       | 第47条 (PCT規則38.2(b)) の規定により<br> 国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこざる。   |  |  |  |  |
| <br>  6. 要約書とともに公表される図は  |  | _  |  |  |  |  |
| 第図とする。 □ 出   |  | 区 なし   |  |  |  |  |
|  | 願人は図を示さなかった。   |  |  |  |  |  |
| 本  | 図は発明の特徴を一層よく表している。   |  |  |  |  |  |

| A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IF | , C) | ) |
|--------------------------|------|---|
|--------------------------|------|---|

Int. Cl' C12N5/08, C12M1/00

#### 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' C12N5/08, C12M1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS) BIOSIS (DIALOG)

WPI (DIALOG)

関連オスレ認められる文献

|   | しし 関連する         | 5と認められる人間  |                  |  |  |
|---|-----------------|--|------------------|--|--|
|   | 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |  |  |
| • | Y               | JP,8-319300,A(財団法人神奈川科学技術アカデミー)3.12月.1996<br>(03.12.96) (ファミリーなし)                                  | 1-5              |  |  |
|   | Y               | 佐藤達也 外著「骨髄移植の効率化に関する研究 第2報 移植骨髄からのTリンパ球除去と骨髄幹細胞の濃縮を目的とした吸着カラムの開発」東京慈恵会医科大学雑誌,1996年,第11巻,第1号,p.9-18 | 1-5              |  |  |
|   |                 |  |                  |  |  |

### X C欄の続きにも文献が列挙されている。

│ │ パテントファミリーに関する別紙を参照。

- \* 引用文献のカテゴリー
- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日 以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行 日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する 文献 (理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって て出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理 論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明 の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以 上の文献との、当業者にとって自明である組合せに よって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26.06.00

国際調査報告の発送日

04.07.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

引地 進

2936 4 B

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C(続き).          | 関連すると認められる文献  |                  |  |  |  |
|-----------------|---|------------------|--|--|--|
| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示   | 関連する<br>請求の範囲の番号 |  |  |  |
| Р, Ү            | Arnon Nagler, et al. "The Use of Soybean Agglutinin(SBA) for<br>Bone Marrow(BM) Purging and Hematopoietic Progenitor Cell<br>Enrichiment in Clinical Bone-Marrow Transplantation",<br>Molecular Biotechnology, April 1999, Vol. 11, No. 2, p. 181-194 | 1-5              |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   | ·                |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |
|                 |   |                  |  |  |  |